

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ H^+ -АТФАЗЫ ПЛАЗМАЛЕММЫ КЛЕТОК КОЛЕОПТИЛЕЙ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

© Е. Л. Рудашевская,¹ А. Ю. Яковлев,² О. В. Яковлева,³ М. Ф. Шишова⁴

^{1,4} Кафедра физиологии и биохимии растений С.-Петербургского государственного университета и ^{1–3} Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург;

⁴ электронный адрес: mshishova@mail.ru

Показано неравномерное изменение активности и характера распределения H^+ -АТФазы плазмалеммы паренхимных клеток субапикальной зоны coleoptилей в период с 3-х по 5-е сут этиолированного развития проростков кукурузы. Исследование проведено с помощью цитохимического метода. Наибольшей активностью фермента характеризовались клетки 4-суточных coleoptилей. Выявленное изменение активности H^+ -АТФазы не соответствует динамике интенсивности роста растяжением клеток coleoptилей в исследуемый период развития проростка.

Ключевые слова: *Zea mays*, coleoptиль, H^+ -АТФаза плазмалеммы, электронно-микроскопическая цитохимия.

H^+ -АТФазы плазмалеммы растительных клеток относятся к АТФазам Р-типа (т. е. фосфорилируется при катализе реакции расщепления АТФ), является Mg^{2+} -зависимой и K^+ -стимулируемой и играет важную биоэнергетическую и регуляторную роль (Полевой, 1986; Serrano, 1989; Briskin, 1990; Palmgren, Harper, 1999; Morsomme, Boutry, 2000). За счет энергии гидролиза АТФ фермент переносит протоны из цитоплазмы через плазматическую мембрану клетки, создавая электрохимический градиент ионов водорода. Этот градиент представляет собой значительную составляющую мембранного потенциала клетки и обеспечивает движущую силу для вторичного транспорта веществ через плазмалемму. H^+ -АТФаза плазмалеммы наряду с протонными насосами тонопласта и других клеточных органелл активно регулирует концентрацию ионов водорода в цитозоле. Тем самым данный фермент является одним из основных компонентов протонной сигнальной системы растительной клетки, участвующей в развитии адаптивных ответных реакций клеток на различные воздействия внешней и внутренней среды, такие как свет, грибные токсины и регуляторы роста (Serrano, 1989; Palmgren, 1991; Felle, 2001). Одним из важных физиологических процессов, в которых принимает участие H^+ -АТФаза плазмалеммы, является активируемый ауксином специфичный для растительных клеток рост растяжением (Rayle, 1973; Полевой, 1986; Luthen, Bottger, 1990; Nager, 2003). Активность H^+ -АТФазы создает условия одновременно для двух процессов, необходимых для роста клеток: увеличение растяжимости клеточной стенки, а также градиент для поступления осмотических веществ в клетку (Serrano, 1993). Можно предположить наличие прямой зависимости интенсивности роста растяжением от активности фермента. К сожалению, до сих пор сравнительных исследований такого рода не проводили. Имеются лишь косвенные данные о возможной вари-

бельности свойств и количества фермента в ходе онтогенеза растения (Frias et al., 1996; Morsomme, Boutry, 2000).

Coleoptили злаков часто используют в качестве объекта исследования роста клеток растяжением. Они представляют собой органы ювенильного проростка. Основной особенностью этих органов является краткость периода развития и завершения физиологической функции. У кукурузы все клетки coleoptили переходят от деления к росту растяжением на 3-и сут развития проростка (Москалева, Полевой, 1987). К 5-м сут, когда лист выходит наружу из-под защиты coleoptили, происходит значительное снижение активности роста клеток coleoptили и снижается чувствительность ростовой реакции к ауксину (Рудашевская и др., 2002).

Мы использовали клетки coleoptилей проростков кукурузы в качестве модельного объекта для изучения динамики активности H^+ -АТФазы в ходе роста растяжением. Локализацию и активность работы фермента оценивали *in situ* с помощью цитохимического метода, основанного на выявлении нерастворимого осадка свинца с неорганическим фосфатом — продуктом ферментативной реакции (Andreev et al., 1997; Муравник, Иванова, 1999).

Материал и методика

Объектом исследования служили coleoptили этиолированных проростков кукурузы *Zea mays* L. гибрид ЗПТК-196, выращенных на разбавленном в 10 раз питательном растворе Чеснокова (Чесноков и др., 1968) с добавлением сульфата кальция в концентрации 0.25 моль/л при 27 °С. В работе использовали coleoptили 3-, 4- и 5-суточных проростков.

Цитохимическое выявление активности H^+ -АТФазы плазмалеммы клеток coleoptи-

лей кукурузы. В работе использовали 3-суточные колеоптиль проростков кукурузы, декапитированные на 3 мм, и 4-х и 5-суточные, декапитированные на 4 мм. На 5-е сут развития проростка брали прорванные листьями колеоптиль. Активность фермента выявляли в отрезках колеоптилей длиной 3 мм, находящихся непосредственно за удаленной апикальной зоной.

Отрезки колеоптилей фиксировали в смеси 3%-ного глутаральдегида с 1.5%-ным параформальдегидом на какодилатном буфере (0.1 моль/л, pH 7.2) в течение 2 ч при 0 °С. Материал промывали в какодилатном буфере 30 мин и в трех сменах Трис-малеатного буфера (25 ммоль/л) по 30 мин при 0 °С. Инкубировали в течение 30 мин в среде (с предварительной инфльтрацией), содержащей (в ммоль/л): 2 АТФ, 2 MgCl₂, 50 KCl, 2 Pb(NO₃)₂, 25 Трис-малеата, pH 7.2, при 37 °С. Промывали Трис-малеатным буфером (25 ммоль/л, 30 мин) и двумя смена какодилатного буфера по 30 мин при 0 °С. Постфиксацию проводили 1%-ным раствором OsO₄ на какодилатном буфере (pH 7.2) 16 ч при 0 °С. В контрольном варианте инкубационная среда не содержала АТФ, Mg²⁺ и K⁺.

После фиксации обезвоживание отрезков колеоптилей проводили в серии ацетонов возрастающих концентраций. Материал заливали в смесь Аралдита и Эпона. Ультратонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме Ultracut-E (Reichert-Jung) и не контрастировали. Активность H⁺-АТФазной определяли методом цитохимии, основанном на образовании нерастворимого электронно-плотного осадка при взаимодействии продукта ферментативной реакции (неорганического фосфата) с Pb(NO₃)₂. В работе использовали методику идентификации АТФа Р-типа (Belitser et al., 1982; Andreev et al., 1997). Микрофотографии выполнены с помощью трансмиссионного электронного микроскопа Tesla BS-500. Количественную оценку электронно-плотного осадка на микрофотографиях проводили с помощью компьютерной программы Image Pro® Plus, любезно предоставленной проф. Marjatta Raudaskoski (Университет Хельсинки). Данная программа позволяет дифференцировать интенсивность преципитации по сравнению с фоном микрофотографии. При количественном определении плотности использова-

ли микрофотографии с одинаковым увеличением (16 000×). Пороговые значения электронной плотности и области измерения (плазмалемма) выбирали вручную при каждой количественной оценке. Во избежание ошибки измерения из-за возможного неравномерного распределения света в исходных микрофотографиях при каждом измерении проводили усредненную оценку фона. На рис. 3 приведены средние значения площадей электронно-плотного осадка в усл. ед. (×10³ пикселей). Число проанализированных микрофотографий в каждом варианте было не менее 10.

Результаты и обсуждение

В работе изучали паренхимные клетки субапикальной части колеоптилей кукурузы. Как видно на срезах, даже у колеоптилей 3-суточных проростков они представляют собой крупные клетки с большой центральной вакуолью и узким пристенным слоем цитоплазмы (рис. 1). В периферическом слое цитоплазмы располагаются ядра, пластиды, митохондрии и др. Сравнительный анализ микрофотографий клеток колеоптилей разного возраста (рис. 2, а, в, д) показал, что в ходе развития слой цитоплазмы истончается при общем увеличении объема вакуоли. Выявленные изменения характерны для паренхимных клеток колеоптилей злаковых растений, растущих растяжением (O'Brien, Thimann, 1965). Особенно заметны изменения, происходящие при переходе проростков от 3-х к 4-м сут развития. Полученные данные согласуются с проведенным нами ранее исследованием изменения динамики интенсивности роста растяжением клеток колеоптилей кукурузы. Интенсивность роста отрезков колеоптилей снижается от 3х к 5-м сут развития проростка кукурузы (Москалева, Полевой, 1987). Наиболее интенсивное снижение ростовой активности наблюдается именно при переходе от 3-х к 4-м сут развития (Рудашевская и др., 2002).

Последующий анализ активности H⁺-АТФазы плазмалеммы клеток колеоптилей проростков кукурузы разного возраста (рис. 2) проводили по наличию в клетках электронно-плотного осадка, сформировавшегося в результате ферментативной реакции как результат образования неорганического фосфата. Несмотря на то что данный метод идентифицирует работу любых ферментов, приводящих к образованию свободного фосфата, его используют для выявления активности H⁺-АТФазы плазмалеммы при создании оптимальных условий для работы фермента (Andreev et al., 1997; Муравник, Иванова, 1999). Адекватность использования данного метода обусловлена еще и тем, что H⁺-АТФаза плазмалеммы является доминирующим АТФ-гидролизующим ферментом плазмалеммы растительных клеток (Morsome, Voutry, 2000).

Можно видеть, что при внесении субстратов реакции H⁺-АТФазы плазмалеммы клетки колеоптилей 3-суточных проростков характеризовались появлением редких, но значительных по площади электронно-плотных областей (гранул) на плазматической мембране (рис. 2, б). Области имели неправильную форму и неравномерное распределение на плазмалемме со стороны цитоплазмы. В контрольном варианте при использовании инкубационной среды, не содержащей АТФ, Mg²⁺ и K⁺, электронно-плотный осадок не выявлялся (рис. 2, а).

У клеток колеоптилей 4-суточных проростков характер распределения электронно-плотных областей

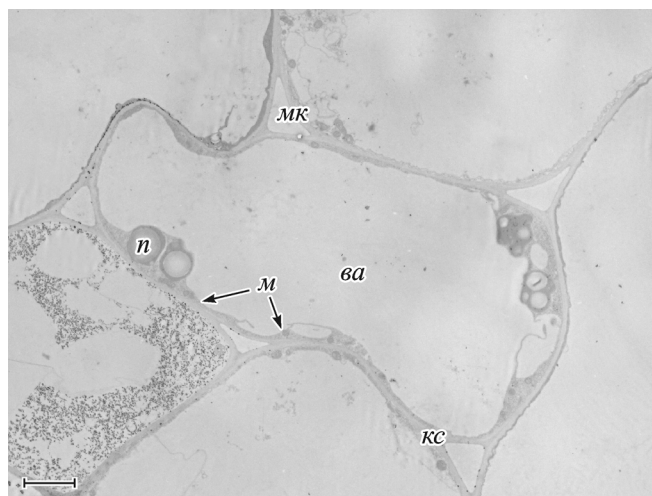


Рис. 1. Клетка колеоптиля 3-суточного проростка кукурузы. ва — вакуоль, м — митохондрия, кс — клеточная стенка, п — пластид, мк — межклетник. Масштабная линейка — 0.5 мкм.

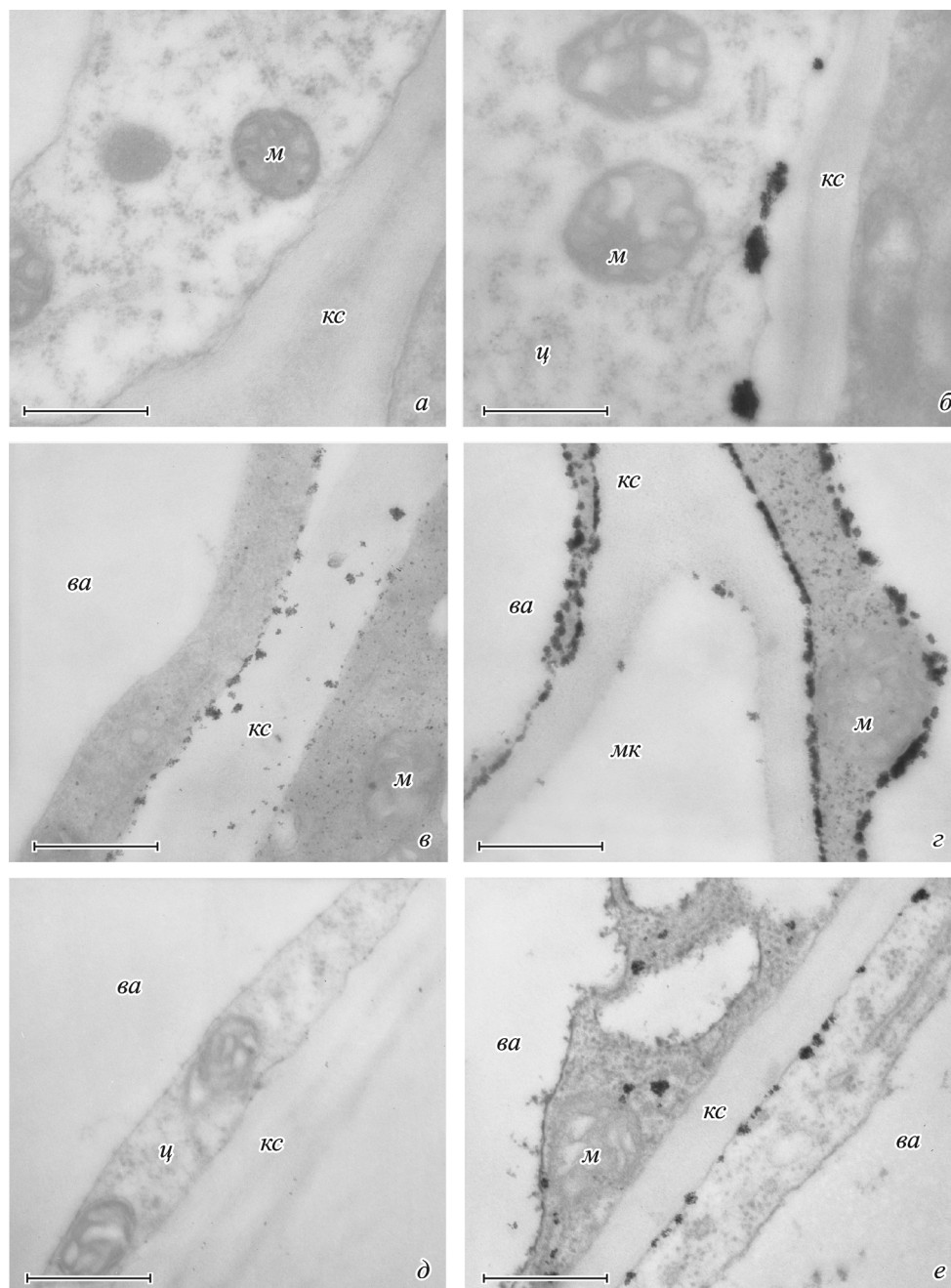


Рис. 2. Цитохимическое выявление активности H^+ -АТФазы плазмалеммы клеток coleoptилей кукурузы разного возраста. *a, в, д* — контрольные клетки 3-, 4- и 5-суточных проростков соответственно (инкубационная среда не содержала АТФ, Mg^{2+} и K^+); *б, г, е* — опытные клетки 3-, 4- и 5-суточных проростков соответственно. *ва* — вакуоль, *м* — митохондрия, *кс* — клеточная стенка, *мк* — межклетник, *ц* — цитоплазма. Масштабная линейка — 0,5 мкм.

кардинально меняется (рис. 2, *г*). Наблюдаются мелкие часто встречающиеся области на плазмалемме. Они образуют редко прерывающийся слой относительно равномерной толщины. Столь же интенсивное образование осадка наблюдается также на тонопласте. Редкие глобулы осадка выявлены и в клеточной стенке. Следует отметить, что у клеток coleoptилей данного возраста даже в контрольном варианте отмечалось выпадение осадка в клеточной стенке и на плазмалемме (рис. 2, *в*). Тем не менее образующиеся электронно-плотные области не сравнимы по интенсивности с таковыми в опытном варианте (рис. 2, *г*).

На 5-е сут развития проростка продукт реакции обнаруживается в небольших количествах на плазмалемме и в цитоплазме (рис. 2, *е*). Размер глобул на плазмалемме по величине сходен с таковым у 4-суточных проростков, но расположены они значительно реже. В контроле электронно-плотного осадка в клетках не выявлено (рис. 2, *д*).

Количественный анализ (рис. 3) площади электронно-плотных областей на плазмалемме клеток проростков разного возраста с помощью специализированной компьютерной программы показал, что максимального значения этот параметр достигается у клеток 4-суточных проростков. Следует отметить, что интенсивность выпадения

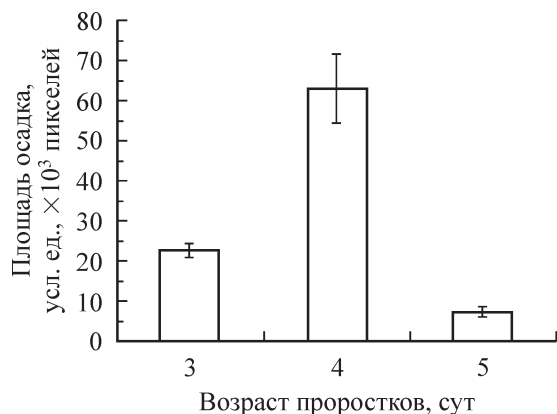


Рис. 3. Изменение площади электронно-плотного осадка на плазмалемме клеток coleoptилей разного возраста.

Количественную оценку проводили при одинаковом увеличении (16 000×) с помощью программы Image Pro® Plus. Приведены средние значения площадей электронно-плотного осадка в усл. ед. (×10³ пикселей).

осадка на данном этапе развития была почти в 3 раза выше, чем у наиболее молодых из исследованных 3-суточных проростков, и в 6 раз больше, чем у стареющих — 5-суточных.

Следовательно, качественный и количественный анализ микрофотографий выявил изменение характера распределения осадка на плазмалемме растительных клеток в ходе роста растяжением. Крупные редкие глобулы электронно-плотного осадка на плазмалемме 3-суточных проростков характеризуют интенсивную работу H^+ -АТФазы плазмалеммы клеток. Известно, что именно в этот период развития клетки интенсивно удлиняются, что соответствует высокой интенсивности процесса роста растяжением. Тем не менее глобулы расположены довольно редко, что свидетельствует о неравномерном распределении ферментативной активности в плазматической мембране. Размер глобул может, по-видимому, определяться активностью работы фермента, т. е. интенсивностью образования неорганического фосфата. Следовательно, значительный размер глобул на 3-и сут развития проростка отражает повышенную гидролитическую активность H^+ -АТФазы. В то же время в ряде исследований было показано, что усиление активности фермента происходит при образовании кластеров из нескольких ферментативных единиц (Sondergaard et al., 2004). Данный феномен, на наш взгляд, также может привести к увеличению размеров электронно-плотного осадка на микрофотографиях при сохранении активности гидролиза в пересчете на единицу фермента на постоянном уровне.

В ходе дальнейшего развития проростка на плазмалемме выявлялись только мелкогабаритные глобулы осадка. Плазмалемма клеток 4-суточных проростков равномерно и практически полностью покрыта осадком, что свидетельствует о высокой активности H^+ -АТФазы и, возможно, об увеличении числа единиц фермента в составе мембраны. Полученные с помощью цитохимического подхода данные согласуются с выявленным нами ранее увеличением гидролитической активности фермента в везикулярной фракции плазмалеммы, очищенной из клеток 4-суточных проростков кукурузы (Рудашевская и др., 2005). Оптимальные условия работы H^+ -АТФазы плазмалеммы достаточно близки к условиям, необходимым для

работы H^+ -АТФазы тонопласта. Этим, по-видимому, можно объяснить интенсивное отложение осадка в области вакуолярной мембраны наряду с плазмалеммой, что согласуется с ведущей ролью данных протонных насосов в росте клетки растяжением с преобладанием роли H^+ -АТФазы плазмалеммы (Maeshima et al., 1996). Столь высокая значимость H^+ -АТФазы плазматической мембраны и насыщенность клеток энергетическими ресурсами (возможно, за счет интенсивного расщепления липидных капель, локализованных в клетках coleoptилей), могут явиться причиной появления электронно-плотного осадка даже в контрольном варианте в области плазмалеммы (при отсутствии АТФ, Mg^{2+} и K^+). Как в контрольных, так и в опытных вариантах было выявлено слабое образование осадка в области клеточной стенки, которое может быть обусловлено активностью ряда ферментов, например кислых фосфатаз, принимающих участие в модификации свойств полимеров клеточной стенки в процессе роста растяжением (Шарова, 2004).

На 5-е сут развития проростка слабо выраженное образование осадка выявлено только в опытном варианте. Электронно-плотные глобулы осадка в большинстве случаев расположены на плазмалемме, что указывает на сохранение активности H^+ -АТФазы и в стареющих клетках при завершении физиологической функции органа ювенильного проростка. Как известно, клетки апикальной зоны coleoptиля в первую очередь подвергаются повреждению при развитии листа. Этот этап развития может характеризоваться запуском программы клеточной смерти, включающей в себя активацию различных гидролитических ферментов, в том числе в цитозоле. В результате образуется неорганический фосфат, а следовательно, электронно-плотный осадок на анализируемых микрофотографиях (рис. 2, е).

Таким образом, динамика активности H^+ -АТФазы плазмалеммы, выявленная цитохимическим методом, имеет неравномерный характер и достигает максимума на 4-е сут развития проростка кукурузы. Выявленные изменения активности H^+ -АТФазы плазмалеммы полностью согласуются с результатами проведенного ранее биохимического анализа гидролитической активности фермента в везикулярных препаратах (Рудашевская и др., 2005). Тем не менее нам не удалось показать прямое соответствие динамики гидролитической активности H^+ -АТФазы плазмалеммы и интенсивности ростовых процессов. Так, было показано, что в интактных проростках резкое снижение интенсивности роста наблюдается при переходе от 3-х к 4-м сут развития, а не позже (Москалева, Полевой, 1987; Рудашевская и др., 2002).

К сожалению, полученные нами результаты не позволяют однозначно охарактеризовать изменение свойств или количества единиц H^+ -АТФазы на плазмалемме клеток coleoptилей. На возможное изменение количества фермента указывает ряд данных. Например, при использовании coleoptилей кукурузы было показано, что под действием ауксина, стимулирующего рост растяжением, происходит увеличение числа H^+ -АТФаз в составе плазмалеммы посредством активации экзоцитоза секреторных пузырьков (Hager et al., 1991) и активизируется синтез преобладающей изоформы H^+ -АТФазы плазмалеммы в несудистых тканях coleoptилей кукурузы (Frias et al., 1996). Интересно, что в обеих этих работах были использованы проростки кукурузы на 4-е сут развития. В то же время о возможном изменении свойств самого фермента в зависимости от стадии онтогенеза свидетельствует изменение

такого показателя, как чувствительность H^+ -АТФазы к ингибиторам (Рудашевская и др., 2005).

Проведенное исследование позволяет сделать вывод об интенсивной работе H^+ -АТФазы плазмалеммы у 3-суточных проростков. По-видимому, на ранних этапах развития фермент образует кластеры, которые в дальнейшем распадаются, и H^+ -АТФаза равномерно распределяется на плазмалемме на 4-е сут развития проростка. Наблюдаемое при этом трехкратное усиление гидролитической активности фермента обеспечивает поддержание идущей в это время на спад ростовой активности клеток. Сохраняющаяся на 5-е сут гидролитическая активность H^+ -АТФазы, вероятно, позволяет поддерживать основные свойства клетки, характеризующейся переходом к запрограммированной смерти при завершении физиологической функции coleoptilya.

Авторы выражают благодарность сотруднику Лаборатории анатомии и морфологии БИН РАН А. Н. Ивановой за помощь в подготовке фотографий к печати и проф. Marjatta Raudaskoski (Университет Хельсинки) за возможность использовать компьютерную программу Image Pro® Plus для дифференцированной оценки интенсивности преципитации.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 03-04-48167 и 07-04-01056).

Список литературы

- Москалева О. В., Полевой В. В. 1987. Влияние фитогормонов на митотическую активность органов проростков кукурузы. Вестн. Ленингр. ун-та. Сер. 3. 2 (10) : 118—121.
- Муравник Л. Е., Иванова А. Н. 1999. Локализация Ca^{2+} и Ca^{2+} -АТФазы в секреторных клетках железистых волосков листьев рожьки. Цитология. 41 (5) : 386—393.
- Полевой В. В. 1986. Роль ауксина в системах регуляции у растений. Л.: Наука. 80 с.
- Рудашевская Е. Л., Емельянов В. В., Кирпичникова А. А., Бунова Е. А., Бобинова О. А., Шишова М. Ф. 2002. Зависимость возрастных изменений ростовой активности coleoptilya и мезокотилей кукурузы от содержания индолил-3-уксусной кислоты. Вестн. СПбГУ. Сер. 3. 3 (19) : 99—106.
- Рудашевская Е. Л., Кирпичникова А. А., Шишов М. Ф. 2005. Активность H^+ -АТФазы плазмалеммы клеток coleoptilya в процессе развития проростка кукурузы. Физиол. раст. 52 (4) : 1—7.
- Чесноков В. А., Базырина Е. Н., Мирославова С. А. 1968. Выращивание растений без почвы. В кн.: Вопросы корневого питания растений. Л.: ЛГУ. 6—24.

Шарова Е. И. 2004. Клеточная стенка растений. СПб.: Изд-во СПбГУ. 156 с.

Andreev I., Dubrovo P., Krylova V., Izmailov S. F. 1997. Characterization of ATP-hydrolyzing and ATP-driven proton-translocating activities associated with the peribacteroid membrane from root nodules of *Lupinus luteus* L. J. Plant Physiol. 151 : 563—569.

Belitser N. V., Zaalishvili G. V., Sytnianskaia N. P. 1982. Ca^{2+} -binding sites and Ca^{2+} -ATPase activity and its reversal by monovalent cations. Physiol. Plant. 54 : 112—118.

Briskin D. P. 1990. The plasma membrane H^+ -ATPase of higher plant cells: biochemistry and transport function. Biochim. biophys. acta. 1019 : 95—109.

Felle H. 2001. pH: signal and messenger in plant cells. Plant Biol. 3 : 577—591.

Frias I., Caldeira M. T., Perez-Castineira J. R. et al. 1996. Major isoform of the maize plasma membrane H^+ -ATPase: characterization and induction by auxin in coleoptiles. Plant Cell. 8 : 1533—1544.

Hager A. 2003. Role of the plasma membrane H^+ -ATPase in auxin-induced elongation growth: historical and new aspects. J. Plant Res. 116 : 483—505.

Hager A., Debus G., Edel H.-G. et al. 1991. Auxin induces exocytosis and rapid synthesis of plasma-membrane H^+ -ATPase. Planta. 185 : 527—537.

Luthen H., Bottger M. 1990. Reexamination of the acid growth theory of auxin action. Plant Physiol. 93 : 931—939.

Maeshima M., Nacaniishi L., Matsuura-Endo Ch., Tanaka Y. 1996. Proton pumps of the vacuolar membrane in growing plant cells. J. Plant Res. 109 : 119—125.

Morsomme P., Boutry M. 2000. The plant plasma membrane H^+ -ATPase: structure, function and regulation. Biochim. biophys. acta. 1465 : 1—16.

O'Brien T. P., Thimann K. V. 1965. Histological studies on the coleoptile. I. Tissue and cell types in the coleoptile tip. Amer. J. Bot. 52 : 910—918.

Palmgren M. G., Christensen G. 1994. Functional comparisons between plant plasma membrane H^+ -ATPase isoforms expressed in yeast. J. Biol. Chem. 269 : 3027—3033.

Palmgren M. G., Harper J. F. 1999. Pumping with plant P-type ATPases. J. Exp. Bot. 50 : 883—893.

Rayle D. L. 1973. Auxin induced hydrogen-ion excretion in *Avena* coleoptiles and its implications. Planta. 114 : 63—73.

Serrano R. 1989. Structure and function of plasma membrane ATPase. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 40 : 61—94.

Serrano R. 1993. Structure, function and regulation of plasma membrane ATPase. FEBS Lett. 325 : 108—111.

Sondergaard T. E., Schulz A., Palmgren M. G. 2004. Energization of transport processes in plants. Roles of the plasma membrane H^+ -ATPase. Plant Physiol. 136 : 2475—2482.

Поступила 11 VI 2008

THE SHIFT IN PLASMA MEMBRANE H^+ -ATPASE ACTIVITY IN COLEOPTILE CELLS WITHIN MAIZE SEEDLING DEVELOPMENT

E. L. Rudashevskaya,¹ A. Yu. Yakovlev,² O. V. Yakovleva,³ M. F. Shishova¹

^{1,4} St. Petersburg State University, Department of Plant Physiology and Biochemistry, and ^{1—3} V. L. Komarov Botanical Institute RAS, St. Petersburg;

¹ e-mail: mshishova@mail.ru

The activity of plasma membrane H^+ -ATPase was cytochemically investigated in parenchyma cells of maize coleoptile. The intensity of ATP hydrolysis was determined by deposition of electron density sediment formed by lead and inorganic phosphate. The shift in the enzyme distribution and its hydrolytic activity in the plas-

ma membrane of maize coleoptile cells were revealed within seedling development. The intensity of precipitation was quantified by *Image Pro® Plus*. The maximum precipitation was determined in plasma membrane of coleoptile cells of 4-days old seedlings. The data obtained coincide with the results of previous biochemical investigation of H⁺-ATPase hydrolytic activity, provided with purified plasma membrane vesicles. Nevertheless the increase in quantity and(or) activity of the enzyme was observed at the 4th day of seedling development which was characterized by slowing down of growth intensity. The results show the possibility of changes in quantity and distribution of the enzyme in plasma membrane during the differentiation process of cell elongation.

Key words: H⁺-ATPase, plasma membrane, cell elongation, maize coleoptile.
